饲粮添加脯氨酸对妊娠环江香猪繁殖性能和血浆生化参数的影响

查　伟[1,2,3]　孔祥峰[2,3]　谭敏捷[2,3]　耿梅梅[2]　许丽卫[2]　游金明[1*]

（1. 江西农业大学，江西省动物营养重点实验室，江西省营养饲料开发工程中心，南昌 330045；2. 中国科学院亚热带农业生态研究所，中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室，长沙 410125；3. 中国科学院环江喀斯特农业生态试验站，香猪研究中心，环江 547100）

摘　要：本试验旨在研究脯氨酸代谢对妊娠环江香猪繁殖性能的影响，并探讨其可能的生理生化机制。选取 48 头后备环江母猪，配种 15 d 后随机分成 3 组，每组 8 个重复，每个重复 2 头猪。各组分别饲喂添加 0.77% *L*-丙氨酸（丙氨酸组）、1% *L*-脯氨酸（脯氨酸组）、0.77% *L*-丙氨酸+0.0167%二氟甲基鸟氨酸（DFMO）（DFMO 组）的试验饲粮。分别于配种第 45 和 70 天，每重复随机取 1 头母猪，放血处死，收集血液，肝素抗凝，离心分离血浆，用于生化参数分析；解剖母猪，记录黄体数、胎儿数和胎儿重。结果表明：妊娠第 70 天时，脯氨酸组窝重显著高于丙氨酸组（$P<0.05$）；妊娠第 45 天时，脯氨酸组血浆谷丙转氨酶活性以及白蛋白浓度均显著低于丙氨酸组（$P<0.05$）。妊娠第 70 天与第 45 天相比，脯氨酸组血浆总胆固醇浓度、DFMO 组血浆高密度脂蛋白和白蛋白浓度均显著降低（$P<0.05$）。其余指标各组间均无显著差异（$P>0.05$）。由此可见，饲粮添加脯氨酸可能通过改善机体氮代谢和脂肪代谢而促进妊娠环江香猪胎儿的生长发育。

关键词：脯氨酸；生化参数；繁殖性能；妊娠；环江香猪

初产母猪在妊娠期内有 20%～50%的胚胎/胎儿损失，而妊娠早期是整个妊娠期胚胎/胎儿死亡的高峰期[1]。初产母猪妊娠早期的高胚胎损失率严重制约着母猪的繁殖效率。胎儿的生长发育是一个复杂的生物学过程，受遗传、营养、环境和母体成熟程度等因素的影响[错误!未找到引用源。]。通过营养手段，可改善胎盘生长和子宫内环境，从而减少妊娠期胚胎/胎儿的死亡[错误!未找到引用源。]。例如，饲粮中添加的精氨酸，可在精氨酸酶催化下被转化为鸟氨酸，

收稿日期：2015-07-28
基金项目：国家自然科学基金面上项目（31270044）；中科院“西部之光”人才培养计划重点项目；留学回国人员科研启动基金
作者简介：查　伟（1989-），男，江西都昌人，硕士研究生，动物营养与饲料科学专业。E-mail: zhaw2932@163.com
*通信作者：游金明，教授，博士生导师，E-mail: youjinm@163.com

然后在鸟氨酸脱羧酶（ODC）催化下合成多胺（包括腐胺、亚精胺和精胺）错误!未找到引用源。。作为精氨酸的重要代谢产物，多胺可促进胚胎形成，加快胎盘血管发育，使血液、营养物质和氧气更好地输送给胎儿，促进胎儿的生长发育错误!未找到引用源。。笔者前期研究发现，利用腐胺处理体外培养的猪胚胎滋养外胚层细胞，可通过激活雷帕霉素靶蛋白（mTOR）信号通路增加蛋白质合成，从而促进胎盘细胞的增殖错误!未找到引用源。。由于猪的胎盘中缺乏精氨酸酶活性，所以在猪的胎盘中精氨酸不能被转化为鸟氨酸，其中的鸟氨酸及其代谢产物多胺可能来源于其他组织器官。精氨酸也可在一氧化氮（NO）合成酶催化下合成 NO，作为一种由内皮细胞生成的主要松弛因子，NO 在促进血管发育、调节胎盘胎儿血流和营养物质从母体到胎儿的运输过程中起着重要作用[7]。所以饲粮中添加的精氨酸可通过多胺途径和 NO 途径促进胎儿生长，改善母猪的繁殖性能。但在猪的胎盘中存在脯氨酸氧化酶（POX）、鸟氨酸转氨酶（OAT）和 ODC 活性，脯氨酸在 POX 和 OAT 作用下生成的鸟氨酸，可在 ODC 催化下进一步脱去羧基生成腐胺，然后分别在亚精胺合成酶和精胺合成酶催化下转变为亚精胺和精胺错误!未找到引用源。。有研究表明，脯氨酸对细胞分化和孕体发育具有重要作用[8-9]。近年来，在精氨酸和谷氨酸等氨基酸提高母猪繁殖性能方面开展了大量研究[10-11]，但对脯氨酸在母猪繁殖性能方面的研究较少。环江香猪是我国著名的小型地方品种猪，具有肉质鲜美、基因纯化和抗逆性强等特点错误!未找到引用源。，但其长期采食青绿饲料和米糠等粗饲料，缺乏科学合理的营养需要量和饲养管理标准，生产效率低下，难以进行大规模、集约化生产。基于前期研究结果[8,13]，本试验通过在饲粮中添加 1%的 *L*-脯氨酸促进机体内多胺的生成，通过添加腐胺合成关键酶——ODC 的特异性不可逆抑制剂二氟甲基鸟氨酸（DFMO）错误!未找到引用源。抑制机体内多胺的生成，旨在探讨多胺代谢对妊娠环江香猪繁殖性能的影响，并探讨其可能的生理生化机制，为脯氨酸在妊娠母猪饲粮中的使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲粮

参照 NRC（1998）饲养标准，并结合环江香猪养殖企业的饲粮制定本试验基础饲粮（表 1）。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content

原料 Ingredients	
玉米 Corn	54.0
豆粕 Soybean meal	12.0
米糠 Rice bran	30.0
预混料 Premix[1)]	4.0
合计 Total	100.0
营养水平 Nutrient levels[2)]	
消化能 Digestive energy/（MJ/kg）	13.40
粗蛋白质 Crude protein	12.04
钙 Calcium	0.78
磷 Phosphorus	0.62
赖氨酸 Lysine	0.53
精氨酸 Arginine	0.65
脯氨酸 Proline	0.67

[1)]每千克预混料含有 Per kg of premix contained：VA 10 200 IU，VD 1 600 IU，VE 75 IU，VK_3 75 mg，VB_1 3 mg，VB_2 16 mg，VB_6 3 mg，VB_{12} 0.8 mg，烟酸 nicotinic acid 69 mg，*D*-泛酸 *D*-pantothenic acid 42 mg，叶酸 folic acid 4 mg，生物素 biotin 1 mg，胆碱 chorine 900 mg，Fe 150 mg，Cu 11.2 mg，Zn 63 mg，Mn 32 mg，I 1.5 mg，Co 0.3 mg，Se 0.25 mg，Ca 200 mg，P 20 mg。

[2)] 消化能为计算值，其余为实测值。Digestive energy was a calculated value, while the others were measured values.

1.2 试验动物分组与饲养管理

试验选取 48 头健康状况良好、体重相近、达到配种条件的后备环江香猪母猪，自然发情、自然交配（12 h 后复配 1 次）。配种后前 15 d 饲喂基础饲粮。于配种后第 16 天称重，根据体重随机分成 3 组，每组 8 个重复（栏），每个重复 2 头猪。各组分别饲喂添加 0.77% *L*-丙氨酸（丙氨酸组，作等氮对照）、1% *L*-脯氨酸（脯氨酸组）、0.77% *L*-丙氨酸+0.0167%DFMO（DFMO 组，通过抑制合成酶活性降低机体内多胺的生成）的试验饲粮。DFMO 的添加剂量由前期在孕鼠上进行的预试验所得的最适添加剂量换算所得。每天分别

于 09:00 和 18:00 进行饲喂，每天饲喂量约为体重的 3%，自由饮水。

动物试验于 2013 年 8 月—12 月在广西环江县明伦镇的中国科学院环江香猪试验基地进行。试验前清扫、冲洗栏舍，猪舍消毒后开始试验。其他日常管理按常规饲养管理方法进行。

1.3　样品采集与测定指标

分别于试验的第 30、55 天（即妊娠第 45、70 天）对各组母猪进行称重，每栏随机选择 1 头母猪，放血处死，收集血液于加有肝素的 10 mL 离心管中，3 000 r/min 离心 10 min 分离血浆，-20 ℃保存；解剖母猪，取出整个子宫，并称重；从子宫中逐一剥离胎猪，观察并记录其在子宫中的位置、胎猪数量和黄体数，并称取胎猪个体重。

于 4 ℃解冻样品，用 CX_4 型全自动生化分析仪（Beckman 公司）测定血浆中总蛋白、白蛋白、血氨、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白的浓度，以及谷丙转氨酶、谷草转氨酶和 γ-谷氨酰转肽酶的活性。所用生化试剂盒均购自北京利德曼公司。

1.4　数据处理

采用 SPSS 19.0 软件对同一孕龄不同组间的数据进行单因素方差分析，对同一组不同孕龄间数据进行独立样本 t 检验分析，结果以平均值±标准误表示。P＜0.05 表示差异显著。

2　结果与分析

2.1　饲粮添加脯氨酸对妊娠环江香猪繁殖性能的影响

由表 2 可知，妊娠第 70 天时，脯氨酸组窝重显著高于丙氨酸组（P<0.05），其余各组的黄体数、胎儿数、窝重、孕体重和胎儿重差异均不显著（P>0.05）。

表 2　妊娠环江香猪的繁殖性能

Table 2　Reproductive performance of pregnant *Huanjiang* mini-pigs

项目 Items	时间 Time/d	丙氨酸组 Alanine group	脯氨酸组 Proline group	DFMO 组 DFMO group
返情母猪头数	45	1	0	1
Number of estrus-returning sows	70	0	0	0
空怀母猪头数	45	1	2	1
Number of empty pregnant sows	70	0	0	0

黄体数	45	8.2±0.6	8.9±0.7	7.8±0.8
Number of corpora luteum	70	8.0±1.2	9.6±0.8	8.3±0.7
胎儿数	45	7.7±0.3	7.7±0.3	7.3±0.8
Fetus number	70	7.0±0.4	8.0±0.3	7.5±0.6
孕体重	45	1 374.1±138.3	1 400.5±47.5	1 420.0±232.1
Conceptus weight/g	70	2 965.2±299.0	3 501.8±205.4	2 857.6±218.3
窝重	45	102.5±9.2	109.8±7.8	96.0±14.3
Litter weight/g	70	726.2±54.5[b]	961.7±74.7[a]	831.0±61.6[ab]
胎儿重	45	13.4±1.2	15.5±2.1	12.9±1.2
Fetus weight/g	70	108.1±5.7	121.1±10.2	113.0±8.2

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

2.2 饲粮添加脯氨酸对妊娠环江香猪血浆酶活性的影响

由表 3 可知，妊娠第 45 天时，脯氨酸组血浆谷丙转氨酶活性显著低于丙氨酸组（P<0.05）。其余指标各组间均无显著差异（P>0.05）。

表 3 妊娠环江香猪的血浆酶活性

Table 3 Plasma enzyme activity of pregnant *Huanjiang* mini-pigs U/L

项目 Items	时间 Time/d	丙氨酸组 Alanine group	脯氨酸组 Proline group	DFMO 组 DFMO group
谷丙转氨酶 ALT	45	64.50±3.67[a]	51.40±3.50[b]	62.50±4.66[ab]
	70	57.38±4.40	53.86±3.58	51.38±1.84
谷草转氨酶 AST	45	64.00±3.65	57.00±5.34	60.40±2.11
	70	63.86±8.19	57.86±7.68	54.00±6.41
γ-谷氨酰转肽酶 GGT	45	73.62±4.92	69.40±6.40	74.30±5.60
	70	113.44±26.93	75.41±10.50	59.65±2.22

2.3　饲粮添加脯氨酸对妊娠环江香猪血浆代谢物浓度的影响

由表 4 可知，妊娠第 45 天时，脯氨酸组血浆白蛋白浓度显著低于丙氨酸组、DFMO 组（P<0.05）；妊娠第 70 天与第 45 天相比，脯氨酸组血浆总胆固醇和低密度脂蛋白浓度以及 DFMO 组血浆白蛋白和高密度脂蛋白浓度均显著降低（P<0.05）。其余参数均无显著差异（P>0.05）。

表 4　妊娠环江香猪的血浆代谢物浓度

Table 4　Plasma concentrations of metabolites of pregnant *Huanjiang* mini-pigs

项目 Items	时间 Time/d	丙氨酸组 Alanine group	脯氨酸组 Proline group	DFMO 组 DFMO group
总蛋白	45	85.47±2.51	80.02±1.69	87.95±4.26
TP/(g/L)	70	82.49±1.62	80.63±2.81	79.76±1.00
白蛋白	45	38.38±1.08[a]	34.44±1.18[b]	40.62±0.80[a]
ALB/(g/L)	70	34.53±1.12*	37.40±1.02	35.18±1.07*
血氨	45	111.07±15.93	104.74±25.77	101.93±13.69
AMM/(μmol/L)	70	85.41±17.36	85.93±20.32	83.51±16.93
尿素氮	45	3.43±0.31	3.18±0.17	3.56±0.28
UN/(mmol/L)	70	3.53±0.36	3.51±0.31	3.91±0.17
总胆固醇	45	2.47±0.23	2.40±0.12	2.55±0.13
TCHO/(mmol/L)	70	1.59±0.33	1.35±0.21*	1.14±0.28
甘油三酯	45	0.41±0.08	0.48±0.05	0.41±0.07
TG/(mmol/L)	70	0.53±0.10	0.37±0.04	0.54±0.10
低密度脂蛋白	45	1.07±0.17	0.97±0.10	0.93±0.10
LDL/(mmol/L)	70	0.90±0.09	0.71±0.07*	0.77±0.08
高密度脂蛋白	45	1.04±0.07	1.05±0.11	1.19±0.08
HDL/(mmol/L)	70	1.01±0.06	0.92±0.10	0.97±0.06*

相同指标同列数据肩标*表示 2 个时间点比较差异显著（P<0.05）。

Values of same index in the same column with * mean significant difference (P<0.05).

3　讨　论

母体营养是子宫内环境的主要影响因素。胎盘是母体与胎儿间进行物质交换的重要场所，胎盘给母体提供的适宜营养素对胎儿的生长发育和存活至关重要[错误!未找到引用源。]。在正常妊娠中，猪脐静脉血中的大部分游离氨基酸的浓度均高于母体血液循环水平[错误!未找到引用源。]。此外，胎儿和母体血液循环中的大部分氨基酸都存在着显著的正相关。脯氨酸是胎盘组织中储量最丰富的氨基酸之一，也是猪胎盘中丰富的氮载体[错误!未找到引用源。]。在妊娠第 20~40 天期间，猪胎盘中脯氨酸的浓度由 0.41 mmol/L 显著增加到 0.58 mmol/L，并且在妊娠第 60 天时浓度达到最大值；在此期间，胎盘中脯氨酸的浓度比母体高出 3~10 倍[错误!未找到引用源。错误!未找到引用源。]。还有研究发现，在妊娠第 60 天时，宫内生长迟缓(IUGR)胎儿较正常胎儿对应的胎盘、羊水和尿囊液中脯氨酸的浓度均显著降低[错误!未找到引用源。]。本试验在饲粮中添加脯氨酸，与添加丙氨酸组相比，妊娠第 70 天时窝重显著提高了 32.43%，胎儿重和孕体重也有一定程度的提高，可能是因为机体利用脯氨酸合成了更多的多胺，促进了胎盘的发育，使胎盘可更好地将营养物质传送给胎儿，从而有利于胎儿的生长发育[错误!未找到引用源。18 错误!未找到引用源。]。

消化吸收的营养物质和各组织器官的代谢物一并进入血液循环，所以可以通过测定血液生化参数来反映机体的新陈代谢状况。谷丙转氨酶和谷草转氨酶是动物体内重要的转氨酶，在氨基酸代谢以及蛋白质、脂肪和糖的代谢转换过程中发挥重要作用[错误!未找到引用源。]。在本试验中，妊娠第 45 天时脯氨酸组母猪的血浆谷丙转氨酶活性较丙氨酸组显著降低了 20.31%。血液中谷丙转氨酶活性的降低，可减少肥胖、高血脂等妊娠综合征发生的风险[错误!未找到引用源。]。

血浆总胆固醇和甘油三酯的浓度，可反映机体脂肪代谢的状况。低密度脂蛋白和高密度脂蛋白是运输胆固醇的载体[错误!未找到引用源。]，低密度脂蛋白把胆固醇从肝脏运送到全身组织，而高密度脂蛋白则将各组织中的胆固醇送回肝脏代谢。本试验中，饲粮添加脯氨酸对妊娠母猪的脂肪代谢无显著影响；而妊娠第 70 天与妊娠第 45 天相比较时，脯氨酸组血浆总胆固醇浓度降低了 43.75%，低密度脂蛋白浓度降低了 26.80%，提示妊娠中期环江香猪对胆固醇的代谢能力加强。

4　结　论

饲粮添加 1%的脯氨酸可能通过改善机体氮利用和脂肪代谢从而促进妊娠环江香猪胎儿的生长发育。

参考文献：

[1] NOVAK S,ALMEIDA F R C L,COSGROVE J R,et al.Effect of pre- and postmating nutritional manipulation on plasma progesterone,blastocyst development,and the oviductal environment during early pregnancy in gilts[J].Journal of Animal Science,2003,81(3):772–783.

[2] WU G,BAZER F W,WALLACE J M,et al.Board-invited review:intrauterine growth retardation:implications for the animal sciences[J].Journal of Animal Science,2006,84(9):2316–2337.

[3] BAZER F W,SPENCER T E,JOHNSON G A,et al.Comparative aspects of implantation[J].Reproduction,2009,138(2):195–209.

[4] WU G Y,BAZER F W,DAVIS T A,et al.Arginine metabolism and nutrition in growth,health and disease[J].Amino Acids,2009,37(1):153–168.

[5] 谭敏捷,孔祥峰,刘庆友,等.多胺与哺乳动物的孕体发育[J].动物营养学报,2015,27(1):43–48.

[6] KONG X F,TAN B,YIN Y L,et al.L-Arginine stimulates the mTOR signaling pathway and protein synthesis in porcine trophectoderm cells[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2012,23(9):1178–1183.

[7] 刘俊锋,胡慧,孔祥峰,等.母猪精氨酸营养研究进展[J].动物营养学报,2010,22(4):840–844.

[8] WU G Y,BAZER F W,DATTA S,et al.Proline metabolism in the conceptus:implications for fetal growth and development[J].Amino Acids,2008,35(4):691–702.

[9] PHANG J M,LIU W.Proline metabolism and cancer[J].Frontiers in Bioscience,2012,17(1):1835–1845.

[10] 孔祥峰,印遇龙,伍国耀.猪功能性氨基酸营养研究进展[J].动物营养学报,2009,21(1):1–7.

[11] 谢春燕,张宇喆,吴信,等.胎盘胎儿复合体谷氨酸-谷氨酰胺循环和交换的生理作用及其调控[J].动物营养学报,2014,26(6):1430–1434.

[12] 杨秀江.从江香猪[J].上海畜牧兽医通讯,2002(2):28–29.

[13] WANG J,LI G R,TAN B E,et al.Oral administration of putrescine and proline during the

suckling period improves epithelial restitution after early weaning in piglets[J].Journal of Animal Science,2015,93(4):1679–1688.

[14] FOZARD J R,PART M L,PRAKASH N J,et al.Inhibition of murine embryonic development by α-difluoromethylornithine,an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase[J].European Journal of Pharmacology,1980,65(4):379–391.

[15] REYNOLDS L P,REDMER D A.Angiogenesis in the placenta[J].Biology of Reproduction,2001,64(4):1033–1040.

[16] WU G Y,POND W G,OTT T,et al.Maternal dietary protein deficiency decreases amino acid concentrations in fetal plasma and allantoic fluid of pigs[J].The Journal of Nutrition,1998,128(5):894 -902.

[17] WU G Y,OTT T L,KNABE D A,et al.Amino acid composition of the fetal pig[J].The Journal of Nutrition,1999,129(5):1031–1038.

[18] WU G Y,BAZER F W,HU J B,et al.Polyamine synthesis from proline in the developing porcine placenta[J].Biology of Reproduction,2005,72(4):842–850.

[19] LIU Y Y,KONG X F,JIANG G L,et al.Effects of dietary protein/energy ratio on growth performance,carcass trait,meat quality,and plasma metabolites in pigs of different genotypes[J].Journal of Animal Science and Biotechnology,2015,6:36.

[20] 崔继烨,厚立君,张丽莉.代谢综合征与谷丙转氨酶关系的调查研究[J].保健医学研究与实践,2011,8(2):16–18.

[21] SHARMAN M J,FERNANDEZ M L,ZERN T L,et al.Replacing dietary carbohydrate with protein and fat decreases the concentrations of small LDL and the inflammatory response induced by atherogenic diets in the guinea pig[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2008,19(11):732–738.

Effects of Dietary Proline Supplementation on Reproductive Performance and Plasma Biochemical Parameters of Pregnant *Huanjiang* Mini-pigs

ZHA Wei[1,2,3] KONG Xiangfeng[2,3] TAN Minjie[2,3] GENG Meimei[2] XU Liwei[2] YOU

Jinming[1*]

(1. *Nutrition Feed Development Engineering Center of Jiangxi Province, Key Laboratory of Animal Nutrition in Jiangxi Province, Jiangxi Agricultural University, Nanchang* 330045, *China;* 2. *Key Laboratory for Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha* 410125, *China;* 3. *Research Center of Mini-Pig, Huanjiang Observation and Research Station for Karst Ecosystems, Chinese Academy of Sciences, Huanjiang* 547100, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effect of proline metabolism on reproductive performance in pregnant *Huanjiang* mini-pigs and approach its underlying physio-biochemical mechanism. Fourty-eight female *Huanjiang* mini-pigs were used in this study. After 15-day of service, the animals were randomly assigned into 3 groups with 8 replicates per group and 2 pigs per replicate. The three groups of pigs were fed the experimental diets supplemented with 0.77% *L*-alanine (alanine group), 1% *L*-proline (proline group), or 0.77% *L*-alanine + 0.0167% 2-difluoromethylornithine (DFMO) (DFMO group) in basal diet, respectively. After 45-day or 70-day of service, one sow per replicate was weighted and killed by bloodletting. Blood samples were collected into heparin-coated tubes and the plasma were got by centrifugation for analyzing biochemical parameters. The number of corpora luteum, fetus number and fetus weight were observed, by dissecting the sampled sows. The results showed as follows: the litter weight in proline group after 70-day of service was significantly higher compared with the alanine group (P<0.05); after 45-day of service, the plasma glutamate pyruvate transaminase activity and albumn concentration in the proline group were significantly decreased compared with the alanine group (P<0.05). After 70-day of service, the plasma total cholesterol concentrations in the proline group, and high-density lipoprotein and albumin concentrations in DFMO group were significantly decreased compared with 45-day post-service (P<0.05). The other parameters had no significant difference among three groups (P>0.05). It is concluded that dietary supplementation with proline might increase the growth and development

*Corresponding author, professor, E-mail: youjinm@163.com (责任编辑　武海龙)

of fetus in pregnant sows via altering the metabolism of nitrogen and lipid during pregnancy.

Key words: proline; biochemical parameter; reproductive performance; pregnancy; *Huanjiang* mini-pig